

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/003157

International filing date: 25 February 2005 (25.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-053391  
Filing date: 27 February 2004 (27.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 21 April 2005 (21.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

02.03.2005

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2 0 0 4 年 2 月 2 7 日

出 願 番 号  
Application Number: 特 願 2 0 0 4 - 0 5 3 3 9 1

パリ条約による外国への出願  
に用いる優先権の主張の基礎  
となる出願の国コードと出願  
番号

The country code and number  
of your priority application,  
to be used for filing abroad  
under the Paris Convention, is

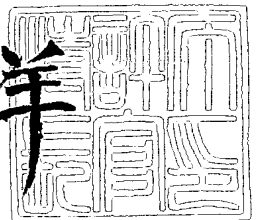
J P 2 0 0 4 - 0 5 3 3 9 1

出 願 人  
Applicant(s): 独立行政法人科学技術振興機構

2 0 0 5 年 4 月 7 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川 洋



【書類名】 特許願  
【整理番号】 N081P16  
【提出日】 平成16年 2月27日  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 G01N 27/62  
【発明者】  
    【住所又は居所】 神奈川県横浜市緑区長津田町 4 2 5 9  
                        東京工業大学資源化学研究所分光科学部門内  
                        石内 俊一  
    【氏名】  
【特許出願人】  
    【識別番号】 503360115  
    【氏名又は名称】 独立行政法人科学技術振興機構  
    【代表者】 沖村 憲樹  
【代理人】  
    【識別番号】 100096541  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 松永 孝義  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100098774  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 坂井 淳  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 004927  
    【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 図面 1  
    【物件名】 要約書 1

**【書類名】 特許請求の範囲****【請求項 1】**

超臨界流体と不揮発性の混合物又は超臨界流体と熱分解性の試料の混合物を高真空容器内にジェット噴射し、分子間衝突のない分子の基底状態の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体の超音速ジェット流を発生させる方法。

**【請求項 2】**

超臨界流体と不揮発性の混合物又は超臨界流体と熱分解性の試料の混合物を  $10^{-7}$  トル以上の高真空下において分子間衝突のない分子の基底状態の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体の超音速ジェット流を発生させて分子線を得て、該分子線をレーザーイオン化法により分子間衝突のない分子の基底状態の前記試料分子又は該試料分子を含む分子会合体のイオンを得て、該イオンを質量分析することを特徴とする超臨界流体ジェット法を用いる質量分析法。

**【請求項 3】**

超臨界流体ジェット発生装置において、パルスバルブを用いて超臨界流体と不揮発性の混合物又は超臨界流体と熱分解性の試料の混合物を超音速ジェット噴射させて超音速ジェット流を得て、該超音速ジェット流をスキマーを介して  $10^{-5}$  トル以上の高真空下にある差動排気室に導入し、さらに前記超音速ジェット流をスキマーを介して  $10^{-7}$  トル以上の高真空中に通じることによって分子線を得て、波長可変レーザーによる共鳴多光子イオン化法により前記分子線から分子間衝突のない分子の基底状態の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体のイオンを得て、該イオンを質量分析することを特徴とする請求項 2 記載の超臨界流体ジェット法を用いる質量分析法。

**【請求項 4】**

前記超臨界流体と前記試料の混合物に 25 容量% 以下の水、メタノール、エタノール、ジオキサン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、ジイソプロピルエーテル又はジエチルエーテルからなるモディファイアー群の少なくともいずれかを添加することを特徴とする請求項 3 記載の超臨界流体ジェット法を用いる質量分析法。

**【請求項 5】**

超臨界流体と不揮発性の混合物又は超臨界流体と熱分解性の試料の混合物を超音速ジェット噴射する超臨界流体ジェット発生装置と、該ジェット発生装置から噴射する超音速ジェット流から分子線を得てイオン化するレーザー照射室と、該レーザー照射室から得られたイオンを質量分析する質量分析器とを設けたことを特徴とする超臨界流体ジェット法を用いる質量分析装置。

**【請求項 6】**

前記超臨界流体ジェット発生装置には超音速ジェット流を発生するパルスバルブを配置し、前記ジェット発生装置とレーザー照射室との間に差動排気室を設け、前記ジェット発生装置と前記差動排気室の間及び前記差動排気室と前記レーザー照射室と間の前記超音速ジェット流の各通過部にはそれぞれスキマーを設けたことを特徴とする請求項 5 記載の超臨界流体ジェット法を用いる質量分析装置。

【書類名】明細書

【発明の名称】超臨界流体ジェット法及び超臨界流体ジェット質量分析方法と装置

【技術分野】

【0001】

本発明は、超臨界流体に溶解した不揮発性の混合物又は超臨界流体に溶解した熱分解性試料の混合物を、超音速ジェット法を用いて極低温・孤立状態の気相状態として真空中で分子間衝突のない分子の基底状態の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体を得る方法及び、前記超音速ジェット流中の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体を共鳴多光子レーザーイオン化法により選択的にイオン化して分子間衝突のない分子の基底状態の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体の質量分析する分析技術に関するものである。

【背景技術】

【0002】

質量分析は環境汚染物質の微量分析やタンパク質等の生体分子又は分子会合体の構造決定などの分野で不可欠の技術となっている。質量分析技術は1) 試料の真空中への導入(インターフェイス)及び気化・イオン化、2) 高分解能化、3) 高感度化の3つの課題があり、それぞれの課題について様々な手法が提案されている。

【0003】

質量分析技術の汎用性を高めるためには、前記1)の新技术開発が不可欠である。気体試料、揮発性試料又は加熱により容易に気化可能な試料は、気化後、真空中に導入してレーザーや電子銃などを用いてイオン化すればよいが、不揮発性試料や熱分解性試料に対しては、いかに試料を分解させずに気化し、イオン化するかが大きな課題となっている。現在のところ不揮発性試料や熱分解性試料の気化方法として主に次の2つの方法が実用化されている。

【0004】

1つはレーザーを用いて瞬間的に加熱・気化させる方法(レーザー蒸発法)である。元来、金属の気体を得るために開発された方法である。レーザーを試料に集光すると、試料は瞬間的に数千℃に加熱され、試料が気化する。しかし、有機分子に同様のレーザー法を適用すると、多光子吸収により分子の解離が起こり、多量のフラグメントが生成し、質量スペクトルの解析が困難となる。

【0005】

これを解決するために目的試料をマトリックス担体に埋め込み、マトリックス担体だけが吸収する波長のレーザー光を用いることにより、目的試料の解離を防ぐことができる。これをマトリックス支援レーザー脱離イオン化(MALDI)法という。

【0006】

もう1つの方法は試料溶液を作成し、そこから溶媒を取り去ることにより気化する方法である。電解質試料の場合は、その溶液からエレクトロスプレーを用いてイオンを取り出し、オリフィスを通じて真空中に導入する方法(エレクトロスプレーイオン化(ESI)法)が用いられる。

また、試料溶液を、ヒーターで加熱されたキャピラリーに導入して気化し、真空中に噴射するサーモスプレー(TS)法などもある。

【0007】

これらの方法は、いかに溶媒を取り除くかが技術開発の鍵になっているが、より除去しやすい溶媒として超臨界流体(液化ガス)を用いる方法がある(超臨界質量分析(SCF-Mass))。この方法を用いて試料の超臨界流体溶液を極細のキャピラリーを通じて真空中に導入すると、直ちに溶液溶媒と試料分子は気化する。

また、炭酸ガスなどの超臨界流体(液化ガス)を用いて分子の質量分析をする方法については、非特許文献1などに記載されている。

【0008】

次に前記気化された試料のイオン化法として知られているMALDI法又はESI法は試料の気化とイオン化を同時に行っている。ガス(液体)クロマトグラフィーと接続して

用いられている一般的な質量分析器、TS法又はSCF-Mass法などでは、気体試料を何らかの方法でイオン化する必要がある。

【0009】

最も一般的に用いられているのは放電や電子銃を用いた電子衝撃イオン化法である。この方法は装置的に安価で保守も簡単である反面、イオン化の際に分子に与える過剰エネルギーが非常に高いために、試料分子の解離（分解）を抑えることが難しい。そのために、質量スペクトルには多量のフラグメントのピークが現れ、非常に煩雑な解析が必要となる。

【0010】

これに対してレーザーイオン化法では、レーザーの波長を選択することで容易にイオン化に際して過剰エネルギーを抑えることができ、試料分子の解離を抑えることができる。そのためソフトイオン化法と呼ばれることがある。

【0011】

ところで、質量分析法は文字通り試料の分子量を測定する方法であるが、当然のことながら試料分子又は分子会合体の異性体を選別することはできないし、さらに分子量からだけでは試料分子又は分子会合体の分子構造の詳細な情報を得ることは不可能である。しかし、気化した試料分子又は分子会合体をレーザーによりイオン化するレーザーイオン化法を用いれば、気化試料に様々なレーザー分光法を適用することができ、試料分子又は分子会合体の分子構造に関する非常に詳細な情報が得られ、また電子遷移エネルギーの違いを利用して試料分子又は分子会合体の異性体を分離して観測することもできる。

【0012】

ただし、試料分子又は分子会合体が様々な振動状態に熱分布していると、始状態の異なる様々な遷移が同時に観測されるために非常に複雑なスペクトルとなり、解析が困難になるばかりか、分子選択性が劣ることになる。この問題を解決するためには、試料分子を冷却して分子を最低エネルギー状態（基底状態）にしてやればよい。これを可能にするのが超音速ジェット法である。試料ガスと希ガスなどのキャリアーガスの混合ガスをオリフィスを通じて真空中に断熱膨張させると、気化した試料分子を含む超音速ジェットが発生する。

【0013】

従来ヘリウムガスなどのキャリアーガスと混合ガスを形成し得る「揮発性の物質（試料分子固有の蒸気圧で決まる）」とを混合して得られた混合ガスをオリフィスから真空中にジェット噴射して、分子間衝突のない極低温状態（分子の基底状態）の気化した試料分子を含み得ることで試料分子の内部のエネルギー状態を認識することができることは本発明者らの下記非特許文献2記載の研究を含めて知られている。

【非特許文献1】 T. Sakamoto, A. Yamamoto, M. Owari and Y. Nihei "Development of a Supercritical Fluid Extractor Coupled with a Time-of-Flight Mass Spectrometer for Online Detection of Extracts" Analytical Sci. 19, 853(2003).

【非特許文献2】 S. Ishiuchi, K. Daigoku, K. Hashimoto and M. Fujii "Four-color burning spectra of phenol/ammonia 1:3 and 1:4 clusters" J. Chem. Phys. 120, 3215 (2003).

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

上記した超音速ジェット法により、分子の最低エネルギー状態（基底状態）にした試料を得ることはヘリウムガスなどのキャリアーガスと混合ガスを形成し得る容易に気化し得る「揮発性の物質」しかなく、不揮発性又は熱分解性の高分子などの物質は加熱しない限り、気化させることができず、分子間衝突のない極低温の孤立状態の試料分子又は分子会合体は得られなかった。

【0015】

また、前記SCF-MASS法は、電解質・非電解質分子を問わず、または不揮発性又

は熱分解性の試料分子又は分子会合体及び熱的に不安定な分子又は分子会合体などは炭酸ガスなどの超臨界流体（液化ガス）を用いて「高温に」加熱しなくても、質量分析ができるが、従来の SCF-MASS 法では、熱的に励起した状態の試料分子又は分子会合体の情報しか得られず、また試料の質量分析には質量のみ測定できれば良いので、分子又は分子会合体の基底状態の試料を得る必要がなかった。

**【0016】**

そこで、本発明の課題は、超臨界流体を用いて電解質・非電解質物質を問わず、または不揮発性又は熱分解性の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体及び熱的に不安定な分子又は該試料分子を含む分子会合体などの基底状態の試料が得られる分析方法と装置を確立することである。

**【0017】**

また、本発明の課題は、超臨界流体を用いて電解質・非電解質物質を問わず、または不揮発性又は熱分解性の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体及び熱的に不安定な分子又は分子会合体などをイオン化した試料を得て、当該イオン化した分子又は分子会合体の内部エネルギー状態又は分子又は分子会合体構造の詳細情報を得る方法と装置を確立することである。

**【課題を解決するための手段】****【0018】**

本発明の上記課題は次の解決手段で解決される。

請求項 1 記載の発明は、超臨界流体と不揮発性の混合物又は超臨界流体と熱分解性の試料の混合物を高真空容器内にジェット噴射し、分子間衝突のない分子の基底状態の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体の超音速ジェット流を発生させる方法である。

なお、試料分子の分子会合体は試料分子をジェット噴射した際に生成される。

**【0019】**

請求項 2 記載の発明は、超臨界流体と不揮発性の混合物又は超臨界流体と熱分解性の試料の混合物を  $10^{-7}$  トル以上の高真空下において分子間衝突のない分子の基底状態の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体の超音速ジェット流を発生させて分子線を得て、該分子線をレーザーイオン化法により分子間衝突のない分子の基底状態の前記試料分子又は該試料分子を含む分子会合体のイオンを得て、該イオンを質量分析することを特徴とする超臨界流体ジェット法を用いる質量分析法である。

**【0020】**

請求項 3 記載の発明は、超臨界流体ジェット発生装置において、パルスバルブを用いて超臨界流体と不揮発性の混合物又は超臨界流体と熱分解性の試料の混合物を超音速ジェット噴射させて超音速ジェット流を得て、該超音速ジェット流をスキマーを介して  $10^{-5}$  トル以上の高真空下にある差動排気室に導入し、さらに前記超音速ジェット流をスキマーを介して  $10^{-7}$  トル以上の高真空中に通じることで分子線を得て、波長可変レーザーによる共鳴多光子イオン化法により前記分子線から分子間衝突のない分子の基底状態の試料分子又は該試料分子を含む分子会合体のイオンを得て、該イオンを質量分析することを特徴とする請求項 2 記載の超臨界流体ジェット法を用いる質量分析法である。

**【0021】**

請求項 4 記載の発明は、前記超臨界流体と前記試料の混合物に 25 容量% 以下の水、メタノール、エタノール、ジオキサン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、ジイソプロピルエーテル又はジエチルエーテルからなるモディファイアー群の少なくともいずれかを添加することを特徴とする請求項 3 記載の超臨界流体ジェット法を用いる質量分析法である。

**【0022】**

請求項 5 記載の発明は、超臨界流体と不揮発性の混合物又は超臨界流体と熱分解性の試料の混合物を超音速ジェット噴射する超臨界流体ジェット発生装置と、該ジェット発生装置から噴射する超音速ジェット流から分子線を得てイオン化するレーザー照射室と、該レーザー照射室から得られたイオンを質量分析する質量分析器とを設けた超臨界流体ジェッ

ト法を用いる質量分析装置である。

#### 【0023】

請求項6記載の発明は、前記超臨界流体ジェット発生装置には超音速ジェット流を発生するバルスバルブを配置し、前記ジェット発生装置とレーザー照射室との間に差動排気室を設け、前記ジェット発生装置と前記差動排気室の間及び前記差動排気室と前記レーザー照射室と間の前記超音速ジェット流の各通過部にはそれぞれスキマーを設けた請求項5記載の超臨界流体ジェット法を用いる質量分析装置である。

#### 【0024】

本発明で使用する超臨界流体は二酸化炭素、酸化二窒素（亜酸化窒素） $N_2O$ などである。

本発明で、試料分子又は分子会合体の溶解用の流体（以降、キャリアと称する）として「ヘリウムガス」でなく炭酸ガスなどの「超臨界流体」を用いる理由は次の通りである、

ヘリウムの場合はガスであるので、試料分子又は分子会合体を「溶かし出す」という機能はなく、試料分子固有の蒸気圧に従って試料は気化してヘリウムとの混合ガスになる。ヘリウムガスなどの通常のガスをキャリアとして用いる場合はキャリアの種類に関係なく、試料分子の「溶け出る」量はそれぞれの試料分子固有の飽和蒸気圧だけで決まる。従って、ナフトールなどの不揮発性の試料分子又は分子会合体はヘリウム中においても加熱しない限り気化しない。

#### 【0025】

すなわち、ガスキャリアと混合ガスを形成し得る「容易に気化しうる試料分子」であれば、ジェット冷却法により最低エネルギー状態の当該試料分子又は分子会合体を得ることができる。しかし、ガスキャリアでは不揮発性物質を加熱しなければ気化させることができない。試料分子が熱分解性物質であると、加熱すれば解離（分解）してしまうので、このような分子にはガスキャリアを用いるジェット冷却法を適用することができない。

#### 【0026】

一方、炭酸ガスなどの超臨界流体は液体としての性質をもっており、試料分子又は分子会合体を「溶かし出す」溶媒としての能力があり、この点がヘリウムのような単なるガスと異なる。超臨界流体の場合は流体の種類や圧力によって「溶け出る」量は変わり、また、微量の前記添加物（モディファイアー）を加えることによっても変化する。このような性質はヘリウムなどのガスではありえない。

#### 【0027】

本発明の大きな特徴の一つは、超臨界流体の液体－気体の2面性を利用していることであり、超臨界流体の試料分子又は分子会合体を溶かし出すための溶媒としての液体の性質と真空中にジェット噴射する際のキャリアーガスとして気体の性質を用いていることである。

#### 【0028】

本発明により、はじめて電解質・非電解質分子を問わず、不揮発性、熱分解性及び熱的に不安定な分子などの試料分子又は分子会合体を高温に加熱せずに「冷却状態」で気化して真空中にジェット冷却されたガスとして取り出すことができるようになった。

#### 【0029】

また、本発明は、臨界圧力72.9気圧以上と臨界温度31.0℃以上の炭酸ガス中に「溶解させた」不揮発性、熱分解性などの試料分子を、高温に加熱せずにレーザー光を照射できる状態の雰囲気（高真空）中に試料分子又は分子会合体の気体サンプルとして取り出すための装置上の工夫にも特徴がある。

#### 【0030】

さらに、本発明の特徴の一つには、100気圧程度の超臨界流体と試料分子又は分子会合体の混合ガスを最低エネルギー状態（分子間衝突のない極低温の基底状態）で $10^{-7}$ Torr程度の高真度が要求される質量分析器内に導入するために、中間に $10^{-5}$ Torr程度の高真空下にある試料分子又は分子会合体の超音速ジェット流を得るための超臨界流体ジェット発生装置と差動排気室を介在させたことである。



## 【0031】

しかし、このジェット発生装置でも  $10^{-5}$  Torr 程度の高真空であるので、高圧状態の超臨界流体と試料分子又は分子会合体の混合ガスを最低エネルギー状態でジェット発生装置に取り出すためには、例えばパルスバルブを用いて超臨界流体ジェット発生装置内に前記混合ガスを噴射することでジェット冷却法を利用して「冷却」が行われる。前記パルスバルブを使用しなくても、コストを度外視すれば巨大なポンプを用いて超音速ジェット流の試料分子又は該試料分子の分子会合体を得ることもできるが、パルスバルブは断続的にガスを噴射するので真空装置へのガス流入量はパルスバルブを使用しない場合に比べて遙かに少なく低排気速度のポンプでも十分な高真空度を得ることができるためコスト的に有利であり、混合ガスを多量に消費しなくてよい利点がある。

## 【0032】

ここで、前記「冷却」は通常の意味での冷却、つまり温度が低い状態という意味ではないので注意を要する。そもそも温度とは熱平衡状態、つまりボルツマン分布に従う状態に対して適用される概念であり、真空中にジェット噴射しているガスは熱平衡状態ではないため、通常の意味での温度という概念は当てはまらない。上記「冷却」には2通りの意味があり、それぞれでメカニズムが次のように異なる。

## 【0033】

一つは、並進速度がそろうということである。これがなぜ「冷却」なのかというと、複数の分子の並進速度がそろうと相対速度がゼロとなるので、ボルツマン温度としてはゼロになるからである。このような過程は高圧から低圧（真空又はそれに近い圧力が好ましい）に一気にガスを噴射することによって起こる現象であり、並進速度のそろう程度は前記高圧と低圧の圧力差が大きいほど良く、そのためにはガスを噴射する際のオリフィス径は小さい方がよい。

## 【0034】

もう一つの「冷却」は分子内部エネルギー（振動・回転エネルギー）の冷却である。分子内部状態の冷却はオリフィスを通過する際にキャリア分子との非弾性衝突により、分子内部エネルギーがキャリア分子の並進速度に転換される過程で起こる。従って、大きい圧力差を作るという意味ではオリフィス径は小さい方がよいが、分子の平均自由行程より小さい径のオリフィスを用いると、オリフィスを通過する際に十分な分子間衝突が起こらないため、分子の内部状態は冷却されない。このようなガス流を漏れジェットと呼ぶ。従来の SCF-Mass 法のように極細キャピラリーを用いた超臨界流体の真空導入法では、キャピラリー出口付近に向かって減圧勾配が生じており、また開口径も非常に小さいため、典型的な漏れジェットとなる。この「冷却」過程は前記衝突が重要で、十分な衝突が起こるためには、オリフィスは少なくとも分子の平均自由行程より大きい径である必要がある。従って、内部エネルギーの冷却に対してはオリフィス径は大きい方がよいということになる。

## 【0035】

以上の2つの「冷却」過程の最適条件はジェット流形成要のパルスバルブのオリフィス径という観点からすると相反することになり、これら最適条件を両立させるためには、前記オリフィス径を大きくして十分な内部エネルギー冷却効果を確保しつつ、且つ試料分子又は分子会合体のジェット噴射前後の雰囲気圧力差が大きくなるようにするためにジェット噴射する容器内を大排気速度の真空ポンプを用いて高い真空度に保つ必要がある。

なお、前記ジェット冷却効果はオリフィス内（高圧側）と出口付近（真空側）との圧力差、及びオリフィスの径で決まる。

## 【0036】

また、前記混合ガスのジェット流を発生させるエネルギー源は、ジェット噴射する前（真空装置に導入する前）のガスの温度で決まる気体分子の運動エネルギー及び内部状態エネルギーであり、熱力学的には両者を併せて「内部エネルギー」と言う。前記内部状態エネルギーは各気体分子の振動・回転エネルギーのことである。

## 【0037】

また、上記したことから「ジェット冷却」とは、様々なエネルギー状態を並進運動エネルギーに転換し、エネルギー状態を単色化（光のエネルギーは波長つまり「色」で決まるので、光だけでなく一般的にエネルギー状態をそろえることを「単色化」という）する過程ということになる。

#### 【0038】

次に、本発明では、超臨界流体ジェット発生装置内の $10^{-5}$ Torr程度の高真空中の冷却状態にある混合ガスを $10^{-7}$ Torr程度の高真度の質量分析器内に導入するために、ジェット発生装置と質量分析器の間に差動排気室を設け、ジェット発生装置と差動排気室の間のガス流路にスキマーを設け、更に差動排気室と質量分析器の間のガス流路にもスキマーを設けた。

#### 【0039】

スキマーは通常のピンホールとは異なり、当該スキマーの先端が鋭利なエッジ状の断面を有する開口部を備えているので、該開口部を通過する「超音速の分子線」は開口端部で分子衝突のない状態で通過でき、ジェット冷却状態のガスは熱的励起が起こりにくい。

#### 【0040】

ガスがピンホールを通過する際にエッジ付近でのガス分子の散乱によって熱的に励起されるが、通常の質量分析では熱的な励起の有無は問題ないが、本発明の目的とする分子又は分子会合体の内部構造を知るためには、分子又は分子会合体を加熱しないで基底状態に保つことが必要であるので、スキマーを使用した。

#### 【0041】

なお、スキマーの開口径はどのくらいの「太さ」の分子線を通すかということで決まり、本発明においては、分子線にレンズで集光したレーザー（焦点径は数 $\mu\text{m}$ ）を照射するため、原理的にはレーザーの集光径程度の「太さ」の分子線を用いればよいが、開口系の小さいスキマーの製作が困難であることと、レーザー光を細い分子線に集光するのが難しいため、開口系が2mm程度のスキマーを使用した。

#### 【0042】

ところで、超音速ジェット流を得るには試料を気化しなければならず、試料を容易には気化することができる本発明により超音速分子線のレーザー分光法は、生体分子や機能性超分子などの分子論的な研究にも強い威力を発揮し、分子又は分子会合体の精密な情報を得ることができるようになった。

#### 【0043】

一方、MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) 法はタンパク質などの不揮発性物質をレーザーで瞬間的に加熱して気化・イオン化する方法であるが、気化の効率がサンプル表面の状態に大きく影響されるため、サンプル供給量が時間的に変動し、質量スペクトル測定には使えるものの、安定なサンプル供給を必要とする分光研究に適用するのは難しい。このようにMALDI法は加熱気化法であり、分子又は分子会合体の電子構造等の研究への適用が難しいことが、本発明の非加熱気化法と著しく相違する方法である。

#### 【0044】

なお、本発明の分析対象の試料は「分子」に限らず、水素結合や誘起相互作用・分散力等の弱い相互作用によって生成する「分子の会合体」の内部構造を知ることでもできる。このように本発明は分子又は分子の会合体を基底状態に保つことが必要であるので、スキマーを使用した。

#### 【0045】

なお、ジェット冷却装置、差動排気室及び質量分析器はそれぞれ独立した分子ターボポンプで気圧調整が行われるので、前記した互いに大きな気圧差があっても、それぞれ所定の気圧に維持できる。

また、超臨界流体に微量の添加物（モディファイアー）を加えると超臨界抽出能力が向上することが知られており、0～25容量%のモディファイアーを添加しても良い。

#### 【0046】

モディファイアーの添加割合は送液ポンプの性能もあるので、加える量の下限値は指定できないが、上限値は25容量%までである。例えば全圧100気圧の場合、超臨界炭酸ガスに25容量%のモディファイアーを添加すると炭酸ガス分としては75気圧になり、これは炭酸ガスの臨界圧力（この圧力よりも高いと超臨界流体と見なせるおよその目安）72.9気圧に近く、流体としての性質が低下するためである。また、モディファイアーを多量に添加すると、試料分子又は分子会合体にモディファイアー分子が多量に付着したクラスターが生成してしまうため、質量分析の際に障害となる。

#### 【発明の効果】

##### 【0047】

本発明によれば、次のような効果がある。

1. 低温で不揮発性、熱分解性の分子又は分子会合体の気相孤立状態を生成することができ、これまで不可能であった生体分子などの熱分解性試料や高分子量の機能性分子の超音速分子線レーザー分光研究を可能にする。

##### 【0048】

2. 基礎科学研究への貢献のみならず、近年のナノテクノロジー研究で創製された様々な機能性分子の評価・測定技術の確立、分子会合体の構造や電子構造の研究に威力を発揮する。

##### 【0049】

3. 生体における分子認識メカニズムの解明に適用できる。

特に神経伝達物質に着目し、超臨界流体ジェット法により神経伝達物質とレセプターの会合体を分子線中に生成し、様々なレーザー分光法を用いて分子認識メカニズムに対して分子論的にアプローチすることができる。

##### 【0050】

4. 従来のSCF-Mass法の漏れジェットを超音速ジェットにすることにより、共鳴多光子レーザーイオン化法を適用可能にした。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

##### 【0051】

本発明の実施例を図面と共に説明する。

図1に本発明の質量分析のための実験装置の全体図を示す。実験方法は次のようにして行った。

一般炭酸ガス（（株）巴商会製：95容量%濃度の炭酸ガス）を液化炭酸送液ポンプ（日本分光（株）製：SCF-Get）で加圧・液化し、定流量モードで送液した（5ml/min）。モディファイアーとしてメタノール（和光純薬（株）製：純度99.8%）を用い、HPLC送液ポンプ（日本分光（株）製：PU-2080）で0.2ml/minの流速で定流量モード送液し、液化炭酸ガスと混合（およそ4容量%）する。

##### 【0052】

得られた混合物を予熱用オープン（日本分光（株）製：SCF-LRO）にて50℃に加熱し、超臨界状態とした。モディファイアー添加超臨界炭酸ガスを自動調圧バルブ（日本分光（株）製：SCF-Bpg）に導入し、100気圧に保った。

##### 【0053】

自動調圧バルブの手前で分岐した定圧のモディファイアー添加超臨界炭酸ガスを真空装置（超臨界流体ジェット発生装置）1内に設置したサンプルホルダー2に導入した。サンプルホルダー2をヒーター3で50℃に加熱し、1-ナフトール（東京化成工業（株）製）の純度98%のものを真空昇華精製して抽出した。サンプルホルダー2の直下に設置した電磁パルスバルブ5（テルアヴィヴ大学装置製作室製：EL-7-3-2000）で繰り返し20Hzで超臨界流体ジェット発生装置（ジェット噴射室）1内に噴射した。

##### 【0054】

検証実験の試料として用いた1-ナフトールの融点は288℃であり、通常100℃前後に加熱しないと十分な濃度の試料ガスを得ることができない。そこで、前述のように50℃、100気圧で約4容量%のメタノールを添加した超臨界二酸化炭素に溶かし、これ

をパルスバルブ5を通じて真空中にジェット噴射したものである。

#### 【0055】

超臨界流体ジェット発生装置1を排気速度1600リットル/sのターボ分子ポンプ6（ファイファー社（ドイツ）製：TMH-1601P）で排気した。ジェット噴射時の真空度は $9 \times 10^{-5}$  Torrであった。発生した超音速ジェット流を開口径2mmのスキマー8（ビームダイナミクス社製：Model-2）で分子線Mに切り出した。得られた分子線Mは排気速度480リットル/sのターボ分子ポンプ9（エドワーズ社（イギリス）製：STP-451）を設置した差動排気室10を通過後、上記と同じ型式のスキマー12を介してレーザー照射室13に導入した。レーザー照射室13はターボ分子ポンプ14（ターボ分子ポンプ9と同じ型式）で排気したが、ジェット噴射時のレーザー照射室13の真空度は $1 \times 10^{-6}$  Torrであった。

#### 【0056】

レーザー照射室13において分子線Mは図2に示すイオンレンズ系のリペラー電極31とエクストラクター電極32のちょうど中間を通過する。ここに波長可変紫外レーザーLを集光し、イオン化した。発生した正イオンを3枚の電極（リペラー：3.54kV，エクストラクター：1.14kV，アインツェルレンズ初段：0V）で分子線に対して直角方向に引き出した。アインツェルレンズ33（初段・後段：0V，中段：1.54kV）及び偏向電極34で軌道補正し、ターボ分子ポンプ17（ターボ分子ポンプ9と同じ型式）で排気した1.8mのフライト・チューブ18（真空度： $5 \times 10^{-7}$  Torr）を経てDaly型イオン検出器16上に収束させて、イオンを検出した。

#### 【0057】

Daly型イオン検出器16の詳細構成を図3に示すが、負高電圧（-10kV）を印加したアルミニウム製の標的35とシンチレーター36（応用光研（株）製：NE102A）及び光電子増倍管37（浜松フォトニクス（株）製：R1450）により構成されている。正イオンはアルミニウム製標的35に引き込まれて衝突する。すると、アルミニウム表面から2次電子が放出され、さらにこれがシンチレーター36で光信号に変換されて光電子増倍管37で検出される。光電子増倍管37からの電流出力は1kΩの抵抗で電圧信号に変換され、前置増幅器21（（株）エヌエフ回路設計ブロック製：BX-31A）で10倍に増幅され、デジタルオシロスコープ22（岩通計測（株）製：DS-4374）で記録した。さらにデジタルオシロスコープ22からパーソナルコンピュータ23にデータ転送し、パソコン23上で質量スペクトル及びREMPI（共鳴多光子イオン化）スペクトルを測定した。

#### 【0058】

なお、波長可変紫外レーザーはYAGレーザー（スペクトラフィジクス（株）製：INDI-40）励起の波長可変色素レーザー（ジラー社（ドイツ）製：Cobra-Stretch）を自動位相整合角追尾装置（インラッド社（アメリカ）製：AUTO TRACKER III）内の非線形光学結晶（インラッド社（アメリカ）製：KDP）にて2倍波に変換して得られた。レーザー装置は電磁パルスバルブに同期して20Hzの繰り返しでパルス幅数ナノ秒のパルスレーザーを発生する。NDフィルターを用いてレーザー強度を数 $\mu\text{J/pulse}$ に落とし、焦点距離220mmの合成石英製レンズでレーザー照射室13内に集光した。

#### 【0059】

図4に得られた質量スペクトルを示す。1-ナフトール他、わずかではあるが1-ナフトールに小数の二酸化炭素が付着したクラスターが観測された。この結果は、超臨界二酸化炭素が1-ナフトールに多量に付着して液滴を形成することがない、つまり超臨界二酸化炭素が質量スペクトル測定の妨げにはならないことを示している。

#### 【0060】

また図5に1-ナフトールのピークをモニターしながら、イオン化レーザーの波長を掃引して得られたREMPIスペクトルの結果を示す。

掃引したイオン化レーザーの波長領域では1-ナフトールは2光子を同時に吸収するこ

とでイオン化する。この時、1光子目が1-ナフトールの内部量子状態に共鳴すると、共鳴効果により2光子遷移確率が急激に高くなり、イオン量のシャープなピークが観測される（共鳴多光子イオン化スペクトル）。十分にジェット冷却された分子の共鳴多光子イオン化スペクトルのピークはシャープな形状を示すことが知られており、本実施例の超臨界流体ジェット法が十分なジェット冷却効果を有することを示している。図5に見られように本実施例のシャープなピークは、1-ナフトールの第一電子励起状態のゼロ振動準位（最も低エネルギー側（図5の左側）のピーク）及び振動励起準位（図5の右側の複数のピーク）である。

【産業上の利用可能性】

【0061】

本発明により、これまで不可能であった生体分子などの熱分解性試料や高分子量の機能性分子の超音速分子線レーザー分光研究を可能にし、生体における分子認識メカニズムなどの基礎科学研究への貢献のみならず、近年のナノテクノロジー研究で創製された様々な機能性分子の評価・測定技術としての貢献が期待される。

【図面の簡単な説明】

【0062】

【図1】本発明の実施例の質量分析のための実験装置の全体図である。

【図2】図1のイオンレンズ系の構成図である。

【図3】図1のイオン検出器の構成図である。

【図4】本発明の実施例で得られた1-ナフトールの質量スペクトルである。

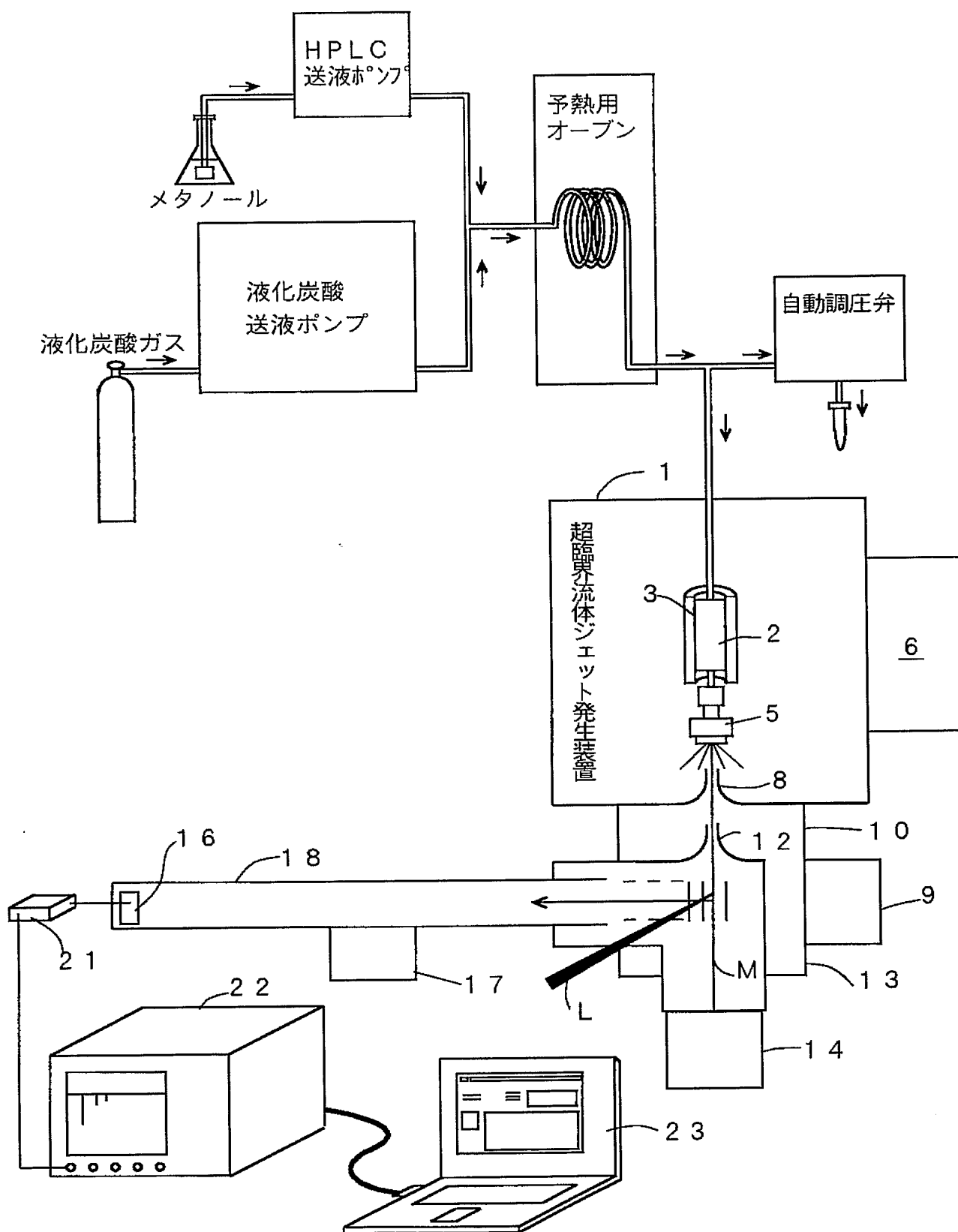
【図5】本発明の実施例で得られた1-ナフトールのREMPIスペクトルである。

【符号の説明】

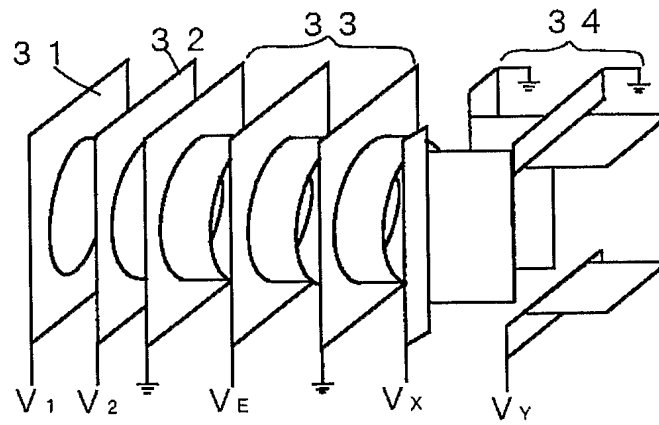
【0063】

- |              |                     |    |             |
|--------------|---------------------|----|-------------|
| 1            | 真空装置（超臨界流体ジェット発生装置） |    |             |
| 2            | サンプルホルダー            | 3  | ヒーター        |
| 5            | パルスバルブ              |    |             |
| 6, 9, 14, 17 | ターボ分子ポンプ            |    |             |
| 8, 12        | スキマー                |    |             |
| 10           | 差動排気室               | 13 | レーザー照射室     |
| 16           | Daly型イオン検出器         | 18 | フライト・チューブ   |
| 21           | 前置増幅器               | 22 | デジタルオシロスコープ |
| 23           | パーソナルコンピューター        |    |             |
| 31           | リペラー電極              | 32 | エクストラクター電極  |
| 33           | アインツェルレンズ           | 34 | 偏向電極        |
| 35           | アルミニウム製標的           | 36 | シンチレーター     |
| 37           | 光電子増倍管              |    |             |

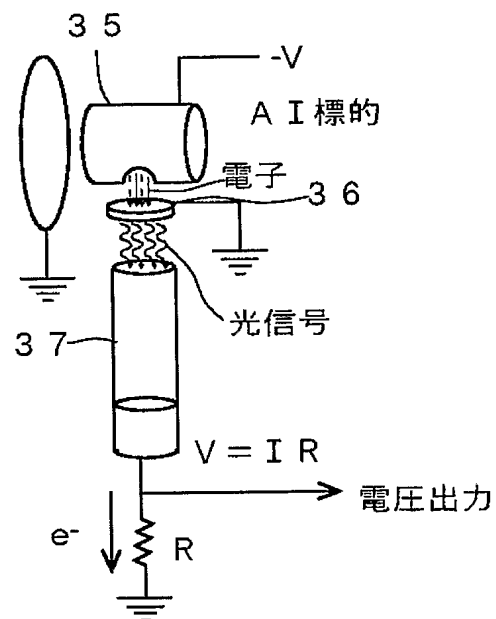
【書類名】 図面  
【図 1】



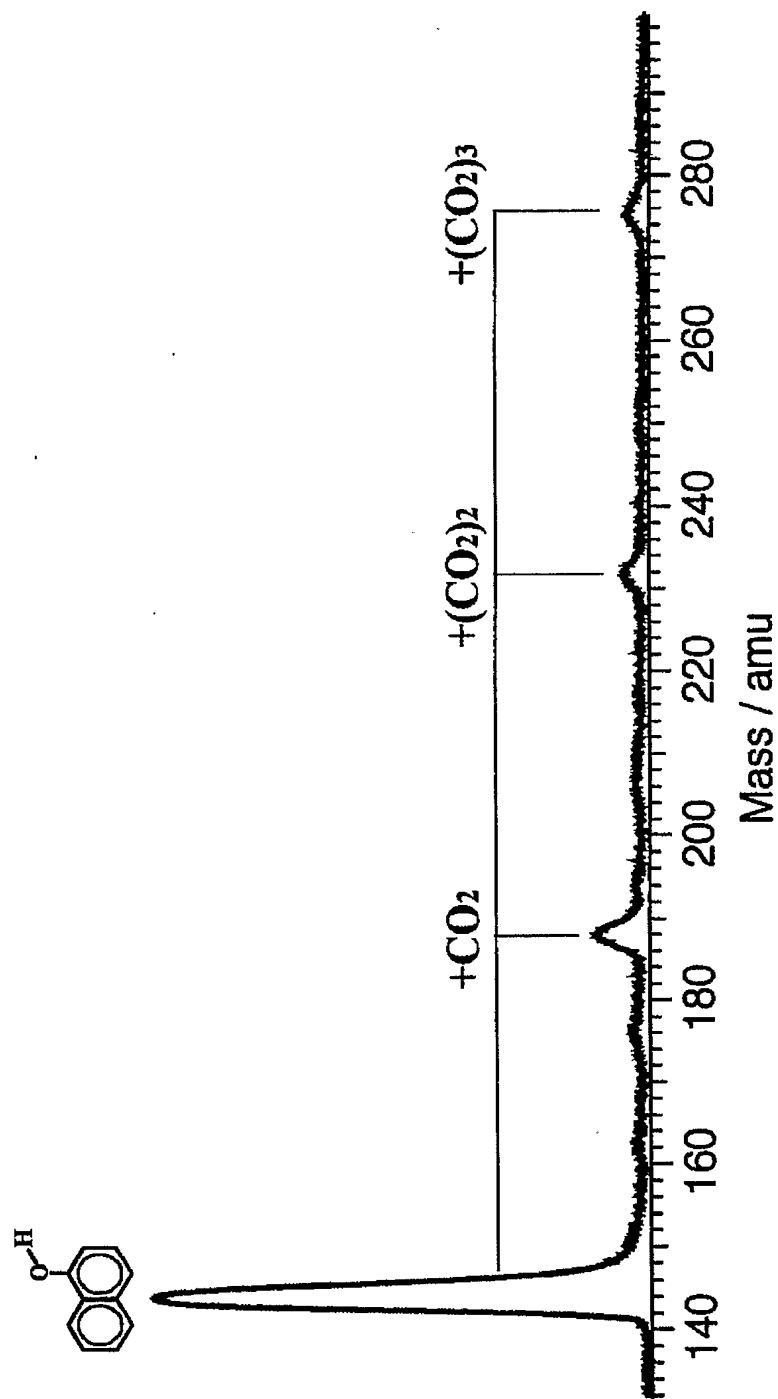
【図 2】



【図 3】

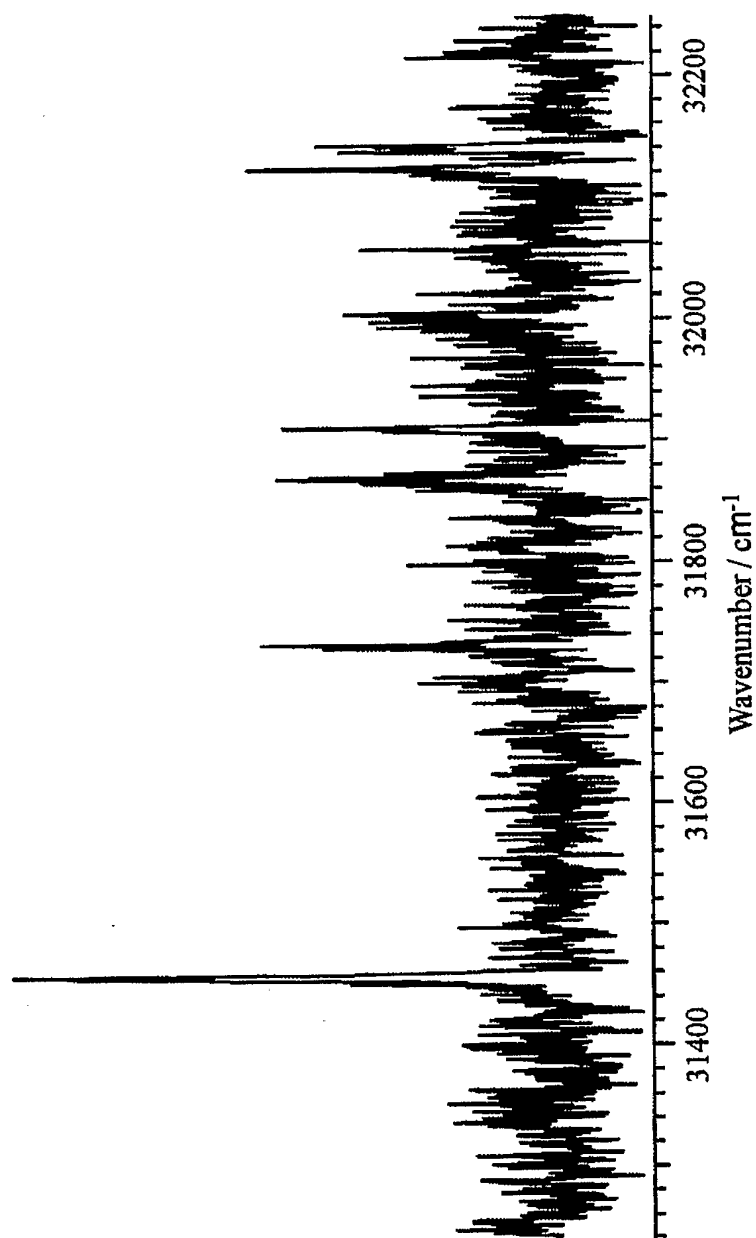


【図 4】





【図 5】



**【書類名】 要約書****【要約】**

**【課題】** 超臨界流体を用いて不揮発性又は熱分解性の分子又は該試料分子の分子会合体及び熱的に不安定な分子又は該試料分子の分子会合体などの基底状態の試料が得られる分析方法と装置を確立すること。

**【解決手段】** 超臨界流体ジェット発生装置 1 において、パルスバルブ 5 を用いて超臨界流体と不揮発性の混合物又は超臨界流体と熱分解性の試料の混合物を超音速ジェット噴射させて超音速ジェット流を得て、該超音速ジェット流をスキマー 8 を介して  $10^{-5}$  トル以上の高真空下にある差動排気室 10 に導入し、さらに前記超音速ジェット流をスキマー 12 を介して  $10^{-7}$  トル以上の高真空下において分子線 M を得て、レーザー照射室 13 内で波長可変レーザー L による共鳴多光子イオン化法により前記分子線 M から分子間衝突のない分子の基底状態の試料分子又は該試料分子の分子会合体のイオンを得て、該イオンを質量分析する。

**【選択図】** 図 1

【書類名】 手続補正書  
【あて先】 特許庁長官殿  
【事件の表示】  
【出願番号】 特願2004- 53391  
【補正をする者】  
【識別番号】 503360115  
【氏名又は名称】 独立行政法人科学技術振興機構  
【代理人】  
【識別番号】 100096541  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 松永 孝義  
【手続補正1】  
【補正対象書類名】 特許願  
【補正対象項目名】 発明者  
【補正方法】 変更  
【補正の内容】  
【発明者】  
【住所又は居所】 神奈川県横浜市緑区長津田町 4 2 5 9  
東京工業大学資源化学研究所分光化学部門内  
石内 俊一  
【氏名】  
【その他】 発明者の「住所又は居所」の誤記の理由は錯誤によるものです。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 4 - 0 5 3 3 9 1
受付番号	5 0 5 0 0 2 7 8 9 0 5
書類名	手続補正書
担当官	鎌田 枉規 8 0 4 5
作成日	平成 1 7 年 3 月 4 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】 平成 17 年 2 月 17 日

特願 2 0 0 4 - 0 5 3 3 9 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 5 0 3 3 6 0 1 1 5 ]

1. 変更年月日 2 0 0 3 年 1 0 月 1 日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号  
氏 名 独立行政法人 科学技術振興機構

2. 変更年月日 2 0 0 4 年 4 月 1 日  
[変更理由] 名称変更  
住 所 埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号  
氏 名 独立行政法人科学技術振興機構